



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**RELAÇÃO DA DOENÇA PERIODONTAL COM O CANCRO DO
PÂNCREAS
DIAGNÓSTICO DO CANCRO DO PÂNCREAS COM RECURSO A
TESTES SALIVARES**

Trabalho submetido por
Francisca Milho Ferro Caldas Gonçalves
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

junho de 2016



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**RELAÇÃO DA DOENÇA PERIODONTAL COM O CANCRO DO
PÂNCREAS
DIAGNÓSTICO DO CANCRO DO PÂNCREAS COM RECURSO A
TESTES SALIVARES**

Trabalho submetido por
Francisca Milho Ferro Caldas Gonçalves
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Dr. Francisco Proença

junho de 2016

Agradecimentos

Em primeira mão, ao meu orientador, Dr. Francisco Proença. Agradeço o incentivo, confiança e o ter despoletado em mim o interesse pela área da Periodontologia.

Aos “Sobreviventes”! Amigos que irão ficar para sempre! Estivemos juntos nos momentos mais divertidos e também nos mais difíceis.

Às minhas amigas de infância, Inês Ambrósio, Mafalda Pinheiro, Margarida Freitas, Virgínia Rodrigues, Mariana Lopes e Mariana Sampaio. Um grande obrigado! Serão sempre as melhores!

À minha prima Ana Filipa, por toda a dedicação e apoio na realização deste trabalho final e pelos nossos jantares com a avó que souberam tão bem.

Ao João Veríssimo pela paciência, motivação e todo o apoio incondicional!

Aos meus pais e irmãos, pela confiança, amor e por todos os bons momentos que me ajudaram a seguir em frente com empenho.

À minha avó! Pelo orgulho e apoio. Obrigada por estares sempre ao meu lado e por todas as velas que acendeste em minha honra! Deste-me toda a luz que precisei. Obrigada.

E por último, mas não menos importante, ao Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz e a todos os Professores incríveis que conheci e que me ensinaram tanto.

Resumo

O cancro do pâncreas é considerado uma das neoplasias malignas de pior prognóstico apresentando, por isso, um impacto social e psicológico evidente. Fatores de risco não modificáveis e fatores de risco ambientais, adquiridos e comportamentais estão implicados, pelo seu impacto sobre a resposta imune do hospedeiro, em cerca de 40% dos casos de tumores do pâncreas.

As bactérias da cavidade oral, como a *Porphyromonas gingivalis* e a *Helicobacter pylori*, para além da sua associação com doença periodontal, podem afetar a defesa do hospedeiro, modificando as respostas inflamatórias e promovendo a carcinogénese pancreática.

A resposta inflamatória do hospedeiro, mediada pelos agentes patogénicos periodontais, leva a um aumento de vários marcadores de inflamação, que se encontram aumentados nos doentes com cancro do pâncreas.

Alguns estudos estabeleceram uma associação positiva entre periodontite, a presença de biomarcadores salivares (microbiológicos, genéticos e enzimáticos) e o risco de desenvolver cancro do pâncreas; atendendo à crescente importância de diagnóstico precoce, coloca-se a questão do recurso a testes salivares no rastreio desta neoplasia.

Mais estudos prospectivos com amostras mais alargadas devem ser implementados para corroborar ambas as hipóteses: relação da doença periodontal e o cancro do pâncreas e o recurso a testes salivares para rastreio do cancro do pâncreas.

Palavras-chave: Cancro do pâncreas, Periodontite, Inflamação sistémica, Biomarcadores salivares.

Abstract

Pancreatic cancer is considered one of the hardest malignancies to diagnose which results in a large social and psychological impact. The non-modifiable as well as environmental, both acquired and behavioral, risk factors are implicit in about 40% of pancreatic tumor cases due to the impact on the immunity response of the host.

The oral cavity bacteria, such as *Porphyromas gingivalis* and *Helicobacter pylori*, additionally to the association with the periodontal disease can affect the host's ability to defend, modifying the inflammatory responses and promoting the pancreatic carcinogenesis.

The inflammatory response of the host, mediated by periodontal pathogens, lead to an increase of the various markers of inflammation, increased by the pancreatic cancer.

Some studies established a positive association between periodontitis, the presence of salivary biomarkers (microbiological; genetic; and enzymatic), and the risk of pancreatic cancer development. Regarding the growing importance of the early diagnosis, salivary tests can be considered as a screening method for the early detection of this malignancy.

Further prospective studies of extended samples should be implemented in order to corroborate both hypotheses: the relationship between the periodontal disease and the pancreatic cancer as well as the early diagnosis of the pancreatic cancer resorting to salivary tests.

Keywords: Pancreatic cancer, Periodontitis, Systemic inflammation, Salivary biomarkers

Índice Geral

I - INTRODUÇÃO	17
II - DESENVOLVIMENTO	19
1. Cancro do Pâncreas	19
1.1. Epidemiologia	19
1.2. Estádios	20
1.3. Fatores de risco.....	20
1.4. Quadro clínico	21
1.5. Fisiopatologia	22
1.6. Tratamento	24
2. Doença periodontal como fator de progressão de doenças sistémicas	26
2.1. Aspetos clínicos da periodontite	26
2.2. Diagnóstico da doença periodontal	26
2.3. Patogénese da periodontite.....	29
2.4. Tratamento e prevenção da doença periodontal	33
3. Relação da Doença Periodontal com o Cancro	34
3.1. Relação da Doença Periodontal com o Cancro do Pâncreas	35
4. Diagnóstico do Cancro do pâncreas	46
4.1. Testes sanguíneos.....	46
4.2. Testes salivares.....	47
4.3. Saliva como fonte de biomarcadores do cancro do pâncreas.....	48
III - CONCLUSÃO	51
IV - BIBLIOGRAFIA	53

Índice de Figuras

Figura 1: Fatores de risco/fisiopatologia do cancro do pâncreas.	23
Figura 2: Patogénese da Periodontite	32
Figura 3: Patogénese da <i>Helicobacter pylori</i>	40
Figura 4: Mecanismo da <i>Porphyromonas gingivalis</i> na promoção da carcinogénese...42	

Índice de Tabelas

Tabela 1: Biomarcadores salivares proteómicos potenciais da periodontite.....	28
Tabela 2: Funções das citocinas na periodontite.....	31
Tabela 3: Mediadores inflamatórios no cancro do pâncreas	45

Lista de Siglas

ACRV1 - *Acrosomal vesicle protein 1*

ADN - Ácido desoxirribonucleico

Ag - Antígeno

AJCC - *American Joint Committee on cancer*

AKT - Quinase serina/treonina

AST - Aspartato aminotransferase

ATP - Adenosina trifosfato

Bab A - Adesina de ligação do antígeno A

BRCA2 - *Breast cancer 2 gene*

CA 19-9 - Antígeno hidrato de carbono 19-9

Cag A - Citotoxina do gene A

CDKN2A - Inibidor de quinase dependente de ciclina 2A

CEA - Antígeno carcinoembriogénico

CEACAM 1 - Antígeno carcinoembriogénico célula de adesão molecular 1

COX - Ciclo-oxigenase

DM2 - Diabetes mellitus tipo 2

DupA - Gene promotor da úlcera duodenal

DPM1 - Dolicol-fosfato manosiltransferase polipeptídeo 1

EGFR - Recetor do fator de crescimento epidérmico

ERO - Espécies reativas de oxigénio

FGC - Fluido gengival crevicular

H2O2 - Peróxido de hidrogénio

HGF - Fator de crescimento do hepatócito

HOMIM - *Human Microbe Identification Microarray*

IL-1 β - Interleucina 1 β

IL-1 α - Interleucina 1 α

IL-6 - Interleucina 6

IL-10 - Interleucina 10

IPMN - Neoplasia intraductal mucinosa do pâncreas

JNK - Quinase c-Jun N-terminal

KRAS - *Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*

LDH - Desidrogenase láctica
LPS - Lipopolissacáridos
MAPK - Quinase ativada por mitógenos
MBD3L2 - Proteína 3 domínio de ligação metil-CpG 2
mRNA - Ácido ribonucleico mensageiro
microRNA - Ácido ribonucleico micro
MMP 8 - Metaloproteinase da matriz 8
MMP 9 - Metaloproteinase da matriz 9
MPO - Mieloperoxidase
MYD88 - Gene 88 de resposta primária de diferenciação mieloide
NDK - Nucleosídeo difosfato quinase
NF-κB - Fator nuclear kappa B
OipA - Proteínas pró-inflamatórias da superfície da membrana A
OmP - Proteínas de superfície da membrana
OPG - Osteoprotegerina
PAD - Peptidil-arginina-deaminase
PI3K - Fosfoinositídeo 3-quinase
PMNs - Polimorfonucleadas
RANKL - Recetor ativador do fator nuclear kappa B ligando
REG4 - *Regenerating family member 4*
RM - Ressonância magnética
SMAD 4 - *Mothers against decapentaplegic homolog 4*
SOD2 - Superóxido dismutase
STAT - Tradutores de sinais e ativadores da transcrição
TC - Tomografia computadorizada
TGF β - Fator de transformação do crescimento β
TIMP1 - Inibidores de tecido da metaloproteinase 1
TLR2 – Recetor *toll-like 2*
TLR4 - Recetor *toll-like 4*
TNF – α - Fator de necrose tumoral α
Vac A - Citotoxina vacuolar A

I - INTRODUÇÃO

Durante as últimas décadas, o desenvolvimento tecnológico e investimento na área da saúde tem registado progressos evidentes que permitiram uma melhoria da qualidade de vida e o aumento da longevidade da população. Contudo, o cancro do pâncreas ainda se insere no grupo de cancros com pior prognóstico, sendo a quarta principal causa de morte por cancro nos países ocidentais, com uma taxa de sobrevida média de seis meses. (Ballehaninna & Chamberlain, 2013; Bonne & Wong, 2012; Humeau, Torrisani, & Cordelier, 2013)

O mau prognóstico parece estar associado à rápida disseminação no sistema linfático e/ou órgãos distantes, bem como à ausência de sintomas específicos da doença que possam conduzir a diagnóstico precoce. A ausência de biomarcadores sanguíneos específicos da fase inicial da doença é outro fator que concorre para o diagnóstico tardio e por isso, para a elevada taxa de mortalidade. Todos estes fatores levam a que a previsão das taxas de sobrevida do cancro do pâncreas para o ano de 2020 o aponte como a segunda principal causa de morte nos países ocidentais. (Ballehaninna & Chamberlain, 2013; Bonne & Wong, 2012; Humeau, Torrisani, & Cordelier, 2013)

Nesta doença, é fundamental uma abordagem multidisciplinar. Todos os profissionais de saúde, incluindo os médicos dentistas, devem estar alerta para patologias potencialmente graves em que o diagnóstico precoce é fundamental. O médico dentista é o profissional de saúde que avalia as doenças da cavidade oral podendo, estas ter influência sistémica. (Miskiewicz, & Szparecki, 2011)

Alguns estudos prospectivos apontam para uma relação positiva entre a periodontite e o aumento do risco de desenvolver cancro do pâncreas. Dois mecanismos principais têm sido propostos na correlação da doença periodontal com o cancro do pâncreas: a alteração do biofilme oral (hipótese bacteriana) e o aumento dos marcadores inflamatórios (hipótese inflamatória). (Farrell et al., 2012; Fitzpatrick & Katz, 2010; Meyer, Joshipura, Giovannucci, & Michaud, 2008)

A deteção precoce do cancro do pâncreas não está rotineiramente implementada, estando confinada a um pequeno número de doentes de alto risco (como por exemplo, aqueles com síndromes hereditários de predisposição para cancro). Este rastreio baseia-se em exames laboratoriais e em exames imagiológicos dispendiosos, até hoje impossíveis de reproduzir na população em geral (por sensibilidade/ especificidade e custo-eficácia insuficientes). (Taylor, 2014; Zhang et al., 2009; Farrell et al., 2012)

Assim, é importante a implementação de um método que possa ser aplicado a uma maior amostra populacional. A saliva tem sido objeto de estudo e considerada uma fonte de biomarcadores cientificamente viável e credível para o diagnóstico precoce de doenças sistémicas. O que remete para a importância do papel do médico dentista na medicina preventiva, uma área com contributo evidente no prognóstico de doenças sistémicas, onde se insere o cancro do pâncreas. (Farrell et al., 2012; Miller et al., 2010; Zhang et al., 2009)

Neste trabalho, far-se-á a apresentação e crítica dos principais estudos existentes sobre a relação da doença periodontal com o cancro do pâncreas e a aplicabilidade dos testes salivares no rastreio do cancro do pâncreas, bem como do racional científico por detrás dos mesmos. A área da medicina dentária preventiva e o recurso a testes salivares encontram-se em grande desenvolvimento, o que revela, de forma inequívoca, que a medicina dentária e o médico dentista se incluem numa visão multidisciplinar da medicina, e que a sua intervenção é relevante, não só nas doenças estomatológicas mas também na doença sistémica: no doente como um todo.

II - DESENVOLVIMENTO

1. Cancro do Pâncreas

O cancro do pâncreas pode ser do tipo exócrino ou do tipo endócrino. O adenocarcinoma pancreático é do tipo exócrino e corresponde a cerca de 95% dos casos de cancro do pâncreas. Tem origem nas células que revestem o ducto pancreático e o processo neoplásico primário envolve na maioria dos casos a cabeça do pâncreas, e mais raramente o corpo e a cauda. Dos tumores do tipo endócrino, o tumor neuro endócrino é o mais prevalente, representando cerca de 5% dos casos. (Ballehaninna & Chamberlain, 2013; Daniel H, 2015; Laufey T. Amundadottir, 2016)

Os adenocarcinomas do pâncreas tendem a comprometer os espaços perineurais e o sistema linfático e vascular, podendo metastizar precocemente para o fígado (80%), peritoneu (60%), pulmões e pleura (60%) e glândulas supra-renais (25%). (Daniel H, 2015)

1.1. Epidemiologia

O cancro do pâncreas é considerado uma das neoplasias malignas de pior prognóstico. Nos Estados Unidos da América, todos os anos, são diagnosticados cerca de 43 000 casos. Destes, 37 000 são casos fatais. Tanto nos Estados Unidos como na Europa, o cancro do pâncreas é a quarta causa mais comum de morte por cancro, em ambos os sexos. Noventa por cento dos doentes encontram-se em estadios avançados quando é efetuado o diagnóstico, o que justifica uma sobrevida média de seis meses. (Kenner, Chari, Cleeter, & Go, 2015; Malvezzi, Bertuccio, Levi, La Vecchia, & Negri, 2014; Miskiewicz & Szparecki, 2011)

A taxa de mortalidade elevada do cancro do pâncreas está associada à rapidez com que invade o sistema linfático e/ou órgãos distantes. A presença de metástases ocultas no momento do diagnóstico e a falta de eficácia no tratamento por quimioterapia, também, são fatores que concorrem para a elevada taxa de mortalidade. Existe, por isso, a necessidade de estratégias terapêuticas mais adequadas que permitam superar as dificuldades relacionadas com o tratamento e melhorar o resultado clínico. (Sarkar, Banerjee, & Li, 2007)

Apesar do cancro do pâncreas poder afetar ambos os sexos, a prevalência encontra-se aumentada no sexo masculino; 13% dos casos ocorrem em doentes com menos de 55 anos e 69% com mais de 65 anos. (Daniel H, 2015; Miskiewicz & Szparecki, 2011)

1.2. Estádios

O estadiamento TNM do cancro do pâncreas foi recentemente atualizado pela *American Joint Committee on Cancer* (AJCC). Classifica os tumores em quatro estádios determinantes de prognóstico, sendo caracterizado por três fatores:

- 1- Tamanho do tumor primário e relação com vasos adjacentes (tronco celíaco e artéria mesentérica superior) -T;
- 2- Envolvimento de nódulos linfáticos regionais - N;
- 3- Presença de metástases à distância – M.

No estadio I, o cancro apresenta pequenas dimensões e está localizado ao pâncreas. O estadio II, é caracterizado por um tumor primário que se estende para os órgãos adjacentes ou envolve gânglios linfáticos regionais, sem metástases à distância ou invasão do tronco celíaco ou da artéria mesentérica superior. Na maioria dos casos, o cancro poderá, nos primeiros estádios, ser ressecável. Doentes com cancro no estadio III e IV encontram-se numa fase avançada da doença. No estadio III, existe o envolvimento das artérias principais e no estadio IV, existem metástases à distância. Os últimos dois estádios não são passíveis de ressecção cirúrgica. (Daniel H, 2015)

1.3. Fatores de risco

Os fatores de risco não modificáveis (idade, etnia e polimorfismos genéticos) e os fatores de risco ambientais, adquiridos e comportamentais (tabagismo, obesidade, diabetes tipo 2 e pancreatite crónica) estão implicados em cerca de 40% dos casos de tumores do pâncreas, pelo seu impacto sobre a resposta imune do hospedeiro. (Daniel H, 2015; Michaud & Izard, 2014; Michaud, 2013)

A infeção pela *H.pylori* e a doença periodontal também têm sido referidas como fatores de risco.(Daniel H, 2015; Michaud & Izard, 2014; Michaud, 2013)

Outro fator de risco identificado que tem sido objeto de estudos recentes é a influência da suscetibilidade genética do grupo sanguíneo ABO. Os doentes com o tipo de sangue A, B e AB têm maior suscetibilidade para desenvolverem cancro do pâncreas

em comparação com os doentes de sangue do tipo O. O mecanismo dessa relação ainda não está totalmente esclarecido. Contudo, os estudos têm demonstrado que o tipo sanguíneo interfere na imunidade do hospedeiro e os portadores de alelos A, B ou AB têm maior risco de infecção por vírus da hepatite B ou por *H. pylori*. (Michaud & Izard, 2014; Michaud, 2013; Risch, 2012)

Aproximadamente 5 a 10% dos doentes com cancro do pâncreas apresentam, na sua história familiar, outros parentes com a mesma doença. Se o parente é de primeiro grau, a probabilidade duplica. O risco aumenta proporcionalmente ao número de parentes afetados, sugerindo a importância da componente hereditária. (Daniel H, 2015; Laufey T. Amundadottir, 2016; Ottenhof, et al., 2011)

Outros fatores de risco, para além da história familiar de cancro do pâncreas, são distúrbios hereditários, como: Síndrome do nevo atípico e melanoma familiar, Síndrome de Peutz-Jeghers, pancreatite hereditária, cancro de mama hereditário, anemia de Fanconi e Síndrome de Lynch. (Daniel H, 2015; Ottenhof et al., 2011)

1.4. Quadro clínico

Os sintomas iniciais do cancro do pâncreas são inespecíficos, como dor difusa epigástrica e abdominal, diarreia, vômitos e obstipação, podendo passar despercebidos. À medida que a doença progride dá-se agravamento sintomático, com dor abdominal localizada que irradia para as costas nos casos de infiltração retroperitoneal, perda ponderal, icterícia, pancreatite aguda e crónica, colecistite aguda, hemorragia digestiva alta, distúrbios neuropsiquiátricos, poliartrite, nódulos cutâneos dolorosos e síndrome febril indeterminado. (Daniel H, 2015)

Os tumores da cabeça do pâncreas são os mais frequentes (70%) e também os mais sintomáticos pela sua proximidade com as vias biliares; os tumores da cauda e corpo são habitualmente assintomáticos até estadios mais avançados, pelo que são também os de pior prognóstico. (Daniel H, 2015; De la Cruz, Young, & Ruffin, 2014)

Os sinais do cancro do pâncreas mais importantes incluem massa abdominal superior, hepatomegalia, esplenomegalia, vesícula palpável (sinal Courvoisier), nódulos periumbilicais (*Sister Mary Joseph's node*), ascite e edema periférico, surgindo em estadios mais avançados. A tromboflebite migratória (sinal de Trousseau) associa-se aos

tumores do pâncreas em 10% dos casos, podendo ser a forma primária de apresentação. (Daniel H, 2015)

1.5. Fisiopatologia

A neoplasia intraepitelial pancreática, neoplasia quística mucinosa e neoplasia intraductal mucinosa do pâncreas, são lesões precursoras do adenocarcinoma pancreático. (Daniel H, 2015; Goggins, 2011; Ottenhof et al., 2011)

A progressão do cancro é acompanhada por alterações genéticas. A identificação dos genes que sofrem mutações é fundamental para a compreensão da patogénese do adenocarcinoma pancreático. Os mediadores inflamatórios, citocinas, espécies reativas de oxigénio (ERO) - radicais livres, como o superóxido, peróxido de hidrogénio, radical hidroxila e o peróxido lipídico, bem como microorganismos patogénicos, produzem alterações na expressão desses genes, potenciando lesões genómicas e a proliferação celular na carcinogénese. (Ottenhof et al., 2011; Takahashi et al., 2013)

O desenvolvimento do cancro do pâncreas tem, na sua origem, a ativação de oncogénese (KRAS, COX1, COX2, Akt), a inativação de genes supressores de tumor (p16, p53, SMAD4, PTEN, BRCA2, CDKN2A.) e/ou a alteração de função de genes - EGFR, PI3K/Akt e NF-κB - que ativam vias de transdução do sinal - PI3K, MAPK, STAT, JNK, MYD88 - inibindo a apoptose, induzindo a progressão do ciclo celular e promovendo a proliferação desordenada, invasão e metastização das células tumorais. O bloqueio destas vias de sinal através de terapêuticas-alvo dirigidas a genes como o EGFR, Akt e NF-κB, é uma estratégia promissora na abordagem destes tumores. (Ottenhof et al., 2011; Sarkar et al., 2007; Zambirinis & Miller, 2013a)

1.5.1. Hipótese Bacteriana

Para além dos microrganismos do trato gastrointestinal e em associação com estes, os microrganismos orais podem participar na carcinogénese pancreática, induzindo alterações celulares e promovendo disbiose, displasia e por último neoplasia. (Michaud & Izard, 2014; Wang & Li, 2015)

O microrganismo mais estudado pertencente ao trato gastrointestinal é a *H.pylori*. Esta bactéria tem sido alvo de estudo na sua relação com a doença periodontal

e apresenta evidência de associação com o cancro gástrico e com o cancro do pâncreas. (Nisha, Nandakumar, Shenoy, & Janam, 2014; Wang & Li, 2015)

A possível relação da doença periodontal com o cancro do pâncreas tem na sua base o papel de microrganismos orais como a *Porphyromonas gingivalis* e a inflamação sistémica potenciada pela doença periodontal. (Michaud & Izard, 2014)

1.5.2. Hipótese inflamatória

Na inflamação crónica, característica da doença periodontal, elevadas concentrações de citocinas pró-inflamatórias, fatores de crescimento e proteases como TNF- α , IL-1 β , IL-6, TGF- β e MMPs, são segregadas e ativam vias oncogénicas nas células do pâncreas. (Takahashi et al., 2013; Yucel-Lindberg & Båge, 2013)

Outro fator que pode desencadear inflamação é o stress oxidativo. Este pode ser causado por um desequilíbrio na produção de espécies reativas de oxigénio (ERO), como peróxidos e radicais livres, podendo induzir lesões no ADN, resultando no desenvolvimento do cancro. As EROs podem prolongar a inflamação crónica pela ativação de fator nuclear kappa B. (Takahashi et al., 2013; Constantinos et al., 2014). Os fatores de risco e a fisiopatologia do cancro do pâncreas encontram-se esquematizados na figura 1.

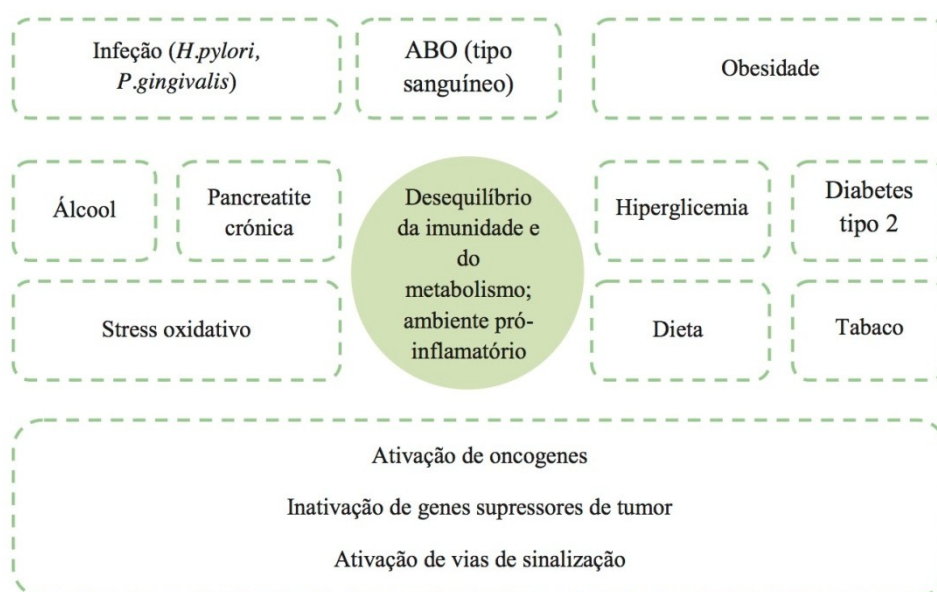


Figura 1: Fatores de risco/fisiopatologia do cancro do pâncreas (Adaptado de Michaud, 2013)

1.6. Tratamento

O potencial curativo do cancro do pâncreas depende do estadio da doença, no momento do diagnóstico. A progressão é silenciosa e os sintomas são pouco específicos, desenvolvendo-se já numa fase avançada da doença e na presença de metástases. Nesta fase avançada, já não está indicada a cirurgia.(Daniel H, 2015; Takahashi et al., 2013)

A ressecção cirúrgica com quimioterapia adjuvante é considerada a única opção curativa, estando indicada em menos de 20% dos doentes. Tal opção aumenta a percentagem da taxa de sobrevivência para cinco anos em cerca de 20% dos casos e, dois anos em 80%. (Daniel H, 2015; De la Cruz et al., 2014; Ottenhof et al., 2011)

Antes da ressecção cirúrgica, pode ser proposta a terapia neoadjuvante, com o objetivo de facilitar a cirurgia. A terapia adjuvante está indicada após a cirurgia, na tentativa de eliminar micrometástases e células tumorais circulantes.(Daniel H, 2015)

Nos esquemas de neoadjuvância e adjuvância, os fármacos mais utilizados são gemcitabina em monoterapia ou 5-Fluouracilo, irinotecano e oxaliplatina; nos casos de envolvimento ganglionar ou tumores bulky, a radioterapia em associação com 5-Fluouracilo é uma opção nas duas estratégias. Na doença metastática, a gemcitabina em monoterapia ou associação com nab-paclitaxel ou fármacos como 5-Fluouracilo, irinotecano e oxaliplatina são opções aceitáveis para doentes com bom estado geral e perfil de toxicidade razoável. (Daniel H, 2015; De la Cruz et al., 2014; Ottenhof et al., 2011)

Recentemente, o avanço da genómica e a descoberta de terapêuticas-alvo vieram lançar uma nova esperança no tratamento do cancro do pâncreas, encontrando-se em curso estudos para melhor definir o papel destas terapêuticas. Nas terapêuticas-alvo utilizam-se fármacos que interferem com genes específicos envolvidos no crescimento e sobrevivência das células cancerígenas (EGFR, Akt, NF- κ B). A principal diferença entre a quimioterapia e as terapêuticas-alvo é que a primeira pode afetar células que apresentam uma divisão atípica mas que não são específicas do cancro; pelo que as terapêuticas-alvo são específicas para as células cancerígenas. (De la Cruz et al., 2014; Ottenhof et al., 2011)

O mau prognóstico associado a esta doença, quer em estadios precoces quer avançados, pela ausência de terapêuticas-alvo aprovadas e a baixa eficácia da quimioterapia, implica que um esforço suplementar deva ser feito no seu rastreio e prevenção; a descoberta de novos marcadores de fácil acesso e relação causal satisfatória permitirá um progresso significativo neste campo.(Daniel H, 2015)

2. Doença periodontal como fator de progressão de doenças sistémicas

A doença periodontal é uma doença crónica que afeta grande parte da população adulta, sendo considerada a principal causa de perda dentária nessa faixa etária. A sua prevalência e gravidade aumentam com a idade. (Highfield, 2009; Meyer et al., 2008; Taylor, 2014)

A nível mundial, a prevalência da doença periodontal, incluindo a gengivite, pode chegar a 90%. Casos de periodontite crónica moderada afetam cerca de 30% da população e a severa, cerca de 10 a 15%. (Meyer et al., 2008; Taylor, 2014)

A periodontite pode ser consequência de um desequilíbrio na dinâmica entre o sistema imunitário do hospedeiro e a placa bacteriana. A progressão da periodontite influencia o restante organismo, potenciando o desenvolvimento de doenças sistémicas. O mecanismo da referida influência tem por base a bacteriemia e a alteração das respostas imuno-inflamatórias do hospedeiro. (Ahn, Segers, & Hayes, 2012; Borgnakke, 2015; Miskiewicz & Szparecki, 2011)

A periodontite e determinadas doenças sistémicas, como o cancro do pâncreas, partilham fatores de risco como a idade, sexo masculino e o tabagismo. (Anil, Varma, & Preethanath, 2010; Miskiewicz & Szparecki, 2011)

2.1. Aspetos clínicos da periodontite

As principais características clínicas da periodontite são a hiperémia, o edema, a hemorragia, a presença de bolsas periodontais, a destruição do ligamento periodontal e do osso de suporte do dente. (Highfield, 2009; Yucel-Lindberg & Båge, 2013; Taylor, 2014)

2.2. Diagnóstico da doença periodontal

O diagnóstico da doença periodontal é clínico e utiliza como meio complementar de diagnóstico, a análise radiográfica. A nível clínico, é avaliada a profundidade da sondagem, a inserção periodontal, a hemorragia à sondagem, lesões de atingimento de furca e a mobilidade dentária. Na análise radiográfica, avalia-se a quantidade de osso marginal. As medidas de diagnóstico são informativas da gravidade da doença, mas não da sua atividade. Estudos imunológicos e patogénicos da doença periodontal

permitiram, a análise de biomarcadores salivares potencialmente informativos da atividade da doença que podem, eventualmente, identificar indivíduos com suscetibilidade aumentada e prever a progressão da doença. (Highfield, 2009; Taylor, 2014; Zhang et al., 2009)

2.2.1. Biomarcadores da doença periodontal

Na pesquisa de biomarcadores salivares para a periodontite, tem sido utilizada a análise do fluido gengival crevicular (FGC). O FGC reflete a atividade da doença em localizações específicas dos dentes, e não em toda a cavidade oral, o que pode complicar a interpretação dos resultados. (Taylor, 2014)

Um biomarcador deve ser capaz de monitorar o estado de saúde, a suscetibilidade e a progressão da doença. Pretende-se que tais biomarcadores possam ser incluídos em testes de prognóstico, onde se analisa a suscetibilidade da doença e o seu início precoce e em testes de diagnóstico que avaliam a progressão, a atividade e a eficácia da terapia. Os biomarcadores devem ser validados por estudos clínicos. Os tipos de biomarcadores são: proteômicos (enzimas, imunoglobulinas e citocinas), genéticos (principalmente em casos de periodontite agressiva) e microbiológicos. (Taylor, 2014; Zhang et al., 2009)

2.2.1.1. Biomarcadores proteômicos

Segundo o estudo de Taylor (2014), as proteínas salivares que foram validadas em três estudos transversais independentes, são consideradas como potenciais biomarcadores da periodontite e encontram-se na Tabela 1.

Proteínas salivares
Interleucina 1 β (IL1 β)
Desidrogenase láctica (LDH)
Aspartato aminotransferase (AST)
Fator de crescimento do hepatócito (HGF)
Metaloproteinases da matriz-8 e 9 (MMP-8,-9)
Inibidores de tecido da metaloproteinase 1 (TIMP1)

Tabela 1: Biomarcadores salivares proteómicos potenciais da periodontite. (Adaptado de Taylor, 2014)

Existe uma associação entre níveis elevados de IL-1 β e a periodontite, sugerindo que a IL-1 β salivar é um potencial biomarcador da periodontite. Os níveis de IL-1 β diminuem significativamente, depois do tratamento da periodontite moderada ou severa. (Bonne & Wong, 2012; Taylor, 2014b)

A desidrogenase láctica (LDH) e a aspartato aminotransferase (AST) são marcadores de lesão celular e de inflamação que tendem a diminuir após o tratamento da periodontite. (Bonne & Wong, 2012; Taylor, 2014; Zhang et al., 2009)

O fator de crescimento do hepatócito (HGF) participa no desenvolvimento dentário, e pode mediar a migração apical do epitélio de união na periodontite. É segregado pelos fibroblastos gengivais e a sua secreção é regulada por citocinas e produtos bacterianos, sendo prevalente em casos de periodontite. (Taylor, 2014)

As metaloproteinases da matriz-8 e 9 e os inibidores de tecido da metaloproteinase - 1 estão, normalmente, elevados na periodontite e os seus níveis diminuem significativamente, após o tratamento da periodontite. (Zhang et al., 2009)

A metaloproteinase-8 parece ser o melhor biomarcador proteômico da periodontite, em relação a outros biomarcadores como a IL-1 β , sendo indicador tanto da gravidade como da atividade da doença. (Taylor, 2014; Zhang et al., 2009)

2.2.1.2. Biomarcadores genéticos

Podem existir polimorfismos genéticos da resposta do hospedeiro nos casos de periodontite agressiva. Os polimorfismos genéticos incluem genes que codificam as citocinas, como a IL1 α , TNF α e a IL10. Um dos polimorfismos da IL-1 α (IL-1 α + 4845 alelos), pode influenciar os valores da quantidade de aspartato aminotransferase na saliva. Os polimorfismos referidos têm sido estudados pela análise sanguínea e do fluido gengival crevicular. (Zhang et al., 2009)

2.2.1.3. Biomarcadores microbiológicos

Determinadas bactérias, como a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, e *Treponema denticola*., são importantes na etiologia da periodontite, podendo ser potenciais biomarcadores salivares de doença. (Zhang et al., 2009)

A complexidade da patogênese da doença periodontal e a sua progressão consoante as diferenças entre indivíduos confirmam, a necessidade de recurso a vários biomarcadores nos testes de diagnóstico e prognóstico da doença periodontal. Assim, a combinação da análise proteômica, genética, microbiana e outros possíveis indicadores é necessária para proporcionar uma análise mais específica. Contudo, há necessidade de mais estudos para o estabelecimento do conjunto de biomarcadores específicos que possam ser utilizados a nível clínico como complemento das medidas de diagnóstico. (Bonne & Wong, 2012; Taylor, 2014; Zhang et al., 2009)

2.3. Patogénese da periodontite

A doença periodontal é uma doença inflamatória crónica podendo levar à perda dentária. A placa bacteriana é o fator etiológico principal da doença periodontal. Tal como acontece com muitas doenças crónicas, a doença periodontal tem vários fatores de risco - fatores de risco não modificáveis (idade, raça/etnia e polimorfismos genéticos) e fatores de risco ambientais, adquiridos e comportamentais (tabagismo, diabetes mellitus, obesidade, osteoporose e fatores psicossociais). O baixo nível

socioeconómico pode estar associado à falta de acesso aos cuidados de higiene oral e, por isso, ao risco aumentado da doença periodontal. (Borgnakke, 2015; Meyer et al., 2008; Yucel-Lindberg & Båge, 2013)

As bactérias periodontopatogénicas e a resposta imunitária do hospedeiro assumem uma relação dinâmica e têm sido associadas com a gravidade e progressão da periodontite. (Borgnakke, 2015; Meyer et al., 2008; Yucel-Lindberg & Båge, 2013)

2.3.1. Bactérias periodontopatogénicas

Na progressão da doença periodontal é verificada uma mudança na composição do biofilme bacteriano de bactérias aeróbias gram-positivas para bactérias anaeróbias gram-negativas. (Scannapieco, 2013)

Na periodontite as bactérias gram-negativas do tipo anaeróbias mais comuns são: a *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. (Cugini, Klepac-Ceraj, Rackaityte, Riggs, & Davey, 2013; Meyer et al., 2008; Scannapieco, 2013)

A deslocação bacteriana do sulco para a corrente sanguínea e a sua colonização à distância é potenciada pela diminuição da espessura e ulceração do epitélio e pela dilatação vascular. (Anil et al., 2010; Borgnakke, 2015; Scannapieco, 2013)

O grau de endotoxémia está relacionado com o aumento da gravidade da periodontite. A presença de endotoxinas no sangue, como lipopolissacáridos (LPS), é um marcador da bacteriemia, podendo induzir respostas imuno-inflamatórias no hospedeiro. (Anil et al., 2010; Bonior, Jaworek, Kot, Konturek, & Pierzchalski, 2012)

2.3.2. Influência dos mediadores inflamatórios no mecanismo bacteriano

A intensidade da resposta imuno-inflamatória depende da quantidade e composição bacteriana na placa dentária mas principalmente do sistema imunitário do hospedeiro. As bactérias periodontopatogénicas podem promover a inflamação local e sistémica, aumentando a permeabilidade vascular e ativando vias de sinalização que conduzem à produção de citocinas inflamatórias. (Borgnakke, 2015) As funções das referidas citocinas encontram-se esquematizadas na tabela 2.

Funções das citocinas
Aumento da permeabilidade celular
Aumento do infiltrado inflamatório (quimiotaxia de neutrófilos e linfócitos)
Ativam as respostas imunes e adaptativas por estimulação das células apresentadoras de antígeno, tais como células dendríticas, células langerhans e macrófagos
Regulam o desenvolvimento de antígenos específicos das células T
Promovem a atividade dos osteoclastos, a secreção de metaloproteinases da matriz e a diminuição da produção de fibras de colágeno, o que leva à destruição do tecido conjuntivo e à reabsorção óssea alveolar

Tabela 2: Funções das citocinas na periodontite. (Adaptado de Taylor, 2014)

Os componentes bacterianos, tais como LPS, antígenos (Ag), proteases e toxinas são reconhecidos pelos receptores *toll-like* (TLRs) na superfície das células do hospedeiro, iniciando uma resposta imuno-inflamatória que ativa as células de defesa, incluindo as células polimorfonucleadas (PMNs) bem como os monócitos.

A ativação das células de defesa resulta na produção de mediadores inflamatórios tais como as citocinas (IL-1 β , IL-6 e TNF α) e enzimas proteolíticas (MMP-8 e 9) que potenciam a permeabilidade vascular e degradação do colágeno, alterando o metabolismo do tecido conjuntivo e do osso. Se as respostas imuno-inflamatórias do hospedeiro são insuficientes para eliminar o impacto microbiano, a resposta inflamatória conduz ao processo crônico de inflamação periodontal e consequentemente à perda de inserção. (Meyer et al., 2008; Scannapieco, 2013; Yucel-Lindberg & Båge, 2013)

Em casos de periodontite severa, os osteoclastos são ativados, promovendo a perda óssea alveolar. O RANKL (receptor ativador do fator nuclear kappa B ligando)

estimula a reabsorção óssea e é regulado positivamente pela IL-1 β e IL-6. Em casos de periodontite severa, foram detetados no fluido gengival crevicular, níveis elevados de RANKL e níveis diminuídos de osteoprotegerina (OPG). Assim, o rácio RANKL / OPG foi sugerido como um possível biomarcador da destruição óssea. (Taylor, 2014; Yucel-Lindberg & Båge, 2013)

O gene da ciclooxygenase 2 (COX2) tem sido relacionado com a periodontite. A COX2 converte o ácido araquidónico em prostaglandina H₂, sendo esta precursora da prostaglandina E₂, que medeia reações pró-inflamatórias e anti-inflamatórias participando nos processos envolvidos na reabsorção do osso alveolar e do tecido conjuntivo periodontal. (Loos, Papantonopoulos, Jepsen, & Laine, 2015; Vaithilingam et al., 2014) A patogénese da periodontite encontra-se esquematizada na figura 2.

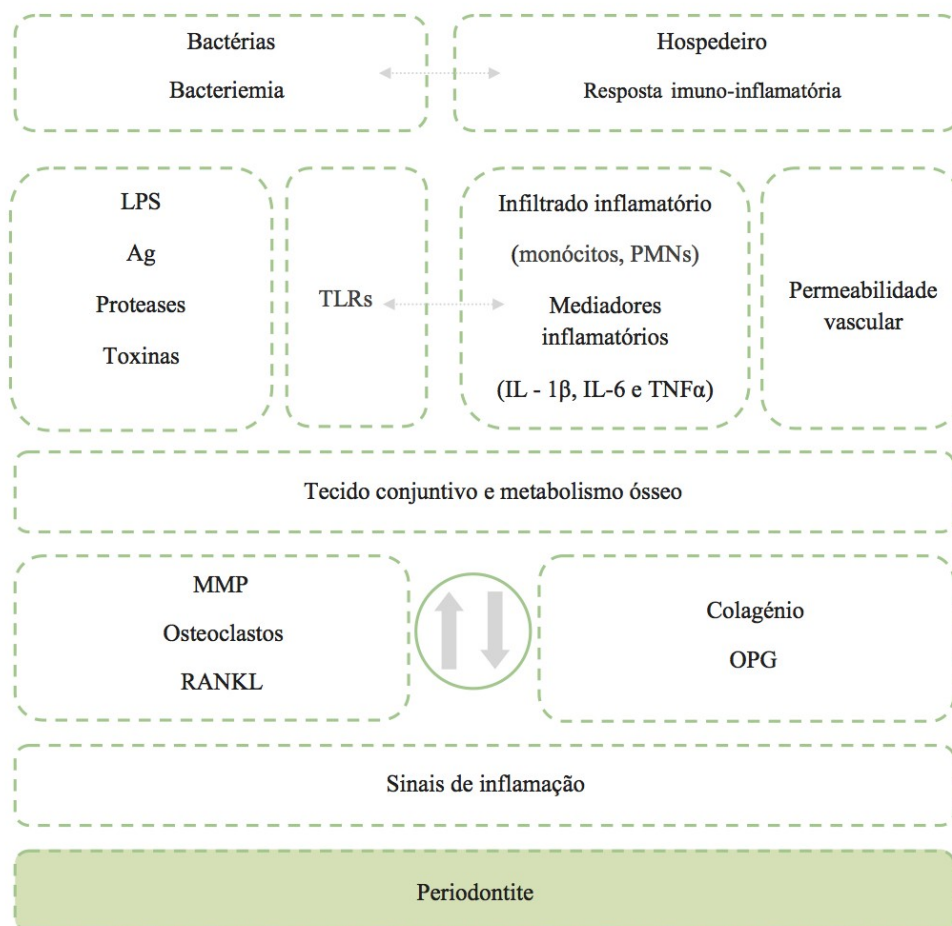


Figura 2: Patogénese da Periodontite. (Adaptado de Borgnakke, 2015; Yucel-Lindberg & Båge, 2013)

2.4. Tratamento e prevenção da doença periodontal

Os objetivos do tratamento e prevenção da doença periodontal são:

- Eliminar os microorganismos e os fatores de risco;
- Diminuir a resposta imuno-inflamatória do hospedeiro como reação à agressão bacteriana;
- Em casos graves, cirurgia periodontal para o tratamento das consequências da periodontite. (Borgnakke, 2015; Kim & Amar, 2006)

O tratamento da periodontite envolve o controlo adequado da higiene oral por parte do doente e o tratamento periodontal inicial por parte do médico dentista. O tratamento inicial inclui, o alisamento radicular, podendo ser complementado com o recurso a anti-sépticos e antibióticos. Se após o tratamento inicial, as bolsas periodontais persistirem com hemorragia à sondagem e supuração, poderá ser necessária a cirurgia periodontal. Podem ser propostos no tratamento da doença periodontal procedimentos adicionais, como a regeneração óssea. (Kim & Amar, 2006; Scannapieco, 2013)

A prevenção, diagnóstico e o tratamento da periodontite, são questões fundamentais pelo facto desta doença poder afetar a patogénese de doenças a nível sistémico, o que inclui a sua potencial influência na patogénese, desenvolvimento e prognóstico do cancro do pâncreas. (Miskiewicz & Szparecki, 2011; Taylor, 2014)

3. Relação da Doença Periodontal com o Cancro

A doença periodontal tem sido associada a muitas doenças sistémicas, incluindo o cancro. (Fitzpatrick & Katz, 2010; Kumar, 2013; Meyer et al., 2008)

O aumento do risco de desenvolver cancro na presença de doença periodontal tem sido mais consistente em casos de cancro oral e cancro esofágico; a correlação entre cancro gástrico ou do pâncreas e a doença periodontal é positiva na maioria dos estudos. (Fitzpatrick & Katz, 2010; Meyer et al., 2008)

Há estudos que sugerem que a presença de subprodutos carcinogénicos (nitrosaminas) e de bactérias (*H.pylori* e *P.gengivalis*) podem potenciar o desenvolvimento de determinados tipos de cancro. (Fitzpatrick & Katz, 2010; Vogtmann & Goedert, 2016; Wang & Li, 2015)

Nos estudos que relacionam a doença periodontal com o cancro, têm sido relatados problemas a nível estatístico como, por exemplo, os critérios de inclusão das amostras de doença periodontal. Estes associam, de uma forma direta, a perda dentária com a doença periodontal, apesar de esta poder ser também provocada por cárie ou trauma. É necessária uma uniformização consistente dos critérios de inclusão das amostras da doença periodontal. Por outro lado, o tabagismo parece ser o principal fator de risco que compromete os resultados quando se pretende relacionar o cancro com a doença periodontal. (Fitzpatrick & Katz, 2010; Meyer et al., 2008)

O estudo de Michaud et al., (2016) incluiu 19 933 homens não fumadores, avaliando a presença de doença periodontal e o risco de desenvolver cancro; neste grupo, a doença periodontal foi associada com um aumento de 33 % de risco de cancro.

Noutro estudo com 48 375 indivíduos, Michaud et al., (2008), tentou relacionar a doença periodontal com o cancro. Foram documentados 5 720 casos de cancro; os cinco mais prevalentes foram: colo-rectal (1 043 casos), melanoma (698 casos), pulmão (678 casos), bexiga (543 casos), próstata (541 casos) e pâncreas (216 casos). A doença periodontal foi associada a um risco estatisticamente significativo de desenvolver cancro.

3.1. Relação da Doença Periodontal com o Cancro do Pâncreas

A doença periodontal pode estar relacionada com o cancro do pâncreas. (Miskiewicz & Szparecki, 2011; Wang & Li, 2015)

No estudo de coorte prospectivo de Michaud et al., (2007), foram diagnosticados 216 casos de cancro do pâncreas. Após a análise e o ajuste dos fatores de risco já conhecidos para o cancro, os homens (inclui fumadores) com doença periodontal tiveram 64% maior risco de desenvolver cancro do pâncreas em comparação com o grupo sem doença periodontal. Entre os não fumadores que apresentavam doença periodontal, foi observado um aumento de 50% no risco de cancro do pâncreas. Verificou-se, então, uma associação estatisticamente significativa entre a doença periodontal e o desenvolvimento de cancro do pâncreas. (Michaud & Izard, 2014; Michaud, 2013)

No estudo de Chang et al., (2016), foi analisada a presença de cancro do pâncreas em duas amostras do instituto *National Health Insurance Research Database of Taiwan*: 139 805 com doença periodontal e 75 085 sem doença periodontal. Em doentes com mais de 65 anos, a doença periodontal foi considerada um fator de risco independente para cancro do pâncreas.

Dois mecanismos principais têm sido propostos na correlação da doença periodontal e o cancro do pâncreas: a alteração do biofilme oral (hipótese bacteriana) e o aumento dos marcadores inflamatórios (hipótese inflamatória). A inflamação tem sido considerada o fator principal quando se pretende relacionar o cancro do pâncreas com a doença periodontal. (Fitzpatrick & Katz, 2010; Meyer et al., 2008)

3.1.1. Hipótese bacteriana

A base de dados *Human Oral Microbe Identification Microarray* (HOMIM) *16S rRNA gene microarray analysis* tornou possível monitorizar a variação das bactérias a nível oral. (Farrell et al., 2012; Kumar, 2013; Scannapieco, 2013)

A alteração do equilíbrio entre as repostas imuno-inflamatórias do hospedeiro e o biofilme bacteriano conduz a inflamação que, quando crónica, pode estar relacionada

com a carcinogénese. Assim, o biofilme oral pode influenciar o desenvolvimento de doenças sistémicas como o cancro do pâncreas. (Ahn et al., 2012; Atanasova & Yilmaz, 2014; Farrell et al., 2012)

As bactérias que se encontram na cavidade oral podem difundir-se a partir do tecido gengival até ao pâncreas, por via hematogénea ou diretamente através do trato gastrointestinal. (Atanasova & Yilmaz, 2014; Farrell et al., 2012; Michaud & Izard, 2014; Michaud, 2013; Scannapieco, 2013)

Na doença periodontal, as bactérias e seus componentes tais como as endotoxinas bem como, os subprodutos metabólicos podem ser tóxicos para as células circundantes, podendo induzir mutações em genes supressores de tumores, em proto-oncogenes e alterar vias de sinalização que afetam a proliferação celular e a sobrevivência das células epiteliais. (Anil et al., 2010)

A enzima peptidil-arginina-deaminase (PAD) associada a bactérias periodontopatogénicas (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, e *Treponema denticola*) pode ser responsável pela mutação do gene supressor de tumor p53 que ocorre em doentes com cancro do pâncreas. (Ögrendik, 2015)

Das bactérias periodontopatogénicas conhecidas, tem sido realizada uma investigação detalhada acerca dos mecanismos da *Helicobacter pylori* e da *Porphyromonas gingivalis* como potenciais fatores de risco do cancro do pâncreas. (Michaud, 2013; Vogtmann & Goedert, 2016)

3.1.1.1. *Helicobacter pylori*

O estudo transversal de Nisha et al., (2014) avaliou a prevalência da doença periodontal e a presença de *H. pylori* na placa bacteriana em 500 indivíduos; em 54 % dos casos as duas coexistiam, tendo por isso sido verificada uma associação estatisticamente significativa. Esta bactéria pode sobreviver nas bolsas periodontais na presença de doença periodontal moderada e avançada.

Estudos epidemiológicos têm relatado uma eventual associação entre a *Helicobacter pylori* e o cancro do pâncreas. (Bulajic, 2014; Elizabeth MA et al., 2015; Franceschi, Tortora, Gasbarrini, & Gasbarrini, 2014)

Na meta-análise de Guru Trikudanathan et al., (2011), a relação da *H.pylori* com o cancro do pâncreas foi validada em seis estudos no total de trinta e dois. Os critérios principais para a validação dos estudos foram confirmação histológica de cancro do pâncreas e serologia positiva para *H.pylori*. Nesses seis estudos envolvendo 2335 doentes, foi verificada a associação estatisticamente significativa entre a *H. pylori* e o desenvolvimento de cancro do pâncreas.

A colonização da *H. pylori* na mucosa gástrica pode provocar inflamação, causando gastrite, úlceras duodenais e úlceras gástricas e, em estadios mais avançados, o cancro gástrico. A suscetibilidade genética, bem como as condições ambientais envolvidas, parecem ter um papel preponderante no tipo de progressão da infeção por *H.pylori*, já que um grande número de doentes permanecem infetados mantendo-se assintomáticos. (Datta De & Roychoudhury, 2015; Elizabeth MA et al., 2015; Nisha et al., 2014)

A proximidade entre o pâncreas, estômago, duodeno e restante trato gastrointestinal evidencia uma influência mútua tanto nos processos fisiológicos como nos processos patológicos. A infeção por *H. pylori* pode aumentar o potencial maligno das células pancreáticas de uma forma semelhante à carcinogénese das células a nível gástrico. (Nilsson et al., 2006; Elizabeth MA et al., 2015)

A *H. pylori* é reconhecida pelos recetores TLR2 e TLR4 nas células epiteliais gástricas e pancreáticas e células do sistema imunitário, desencadeando vias de sinalização nas respetivas células. A *H.pylori* expressa fatores como citotoxina do gene A (Cag A), citotoxina vacuolar A (Vac A), adesina de ligação do antígeno A (Bab A), proteínas da superfície da membrana (*omp*) mais especificamente proteínas pró-inflamatórias da superfície da membrana A (*oipA*) que estão associados com o aumento de infiltração de células inflamatórias e a secreção de enzimas como a urease, mucinase, protease e lipase na mucosa gástrica, estando envolvidas na lesão do epitélio gástrico. O

fator de virulência *dupA* (gene promotor de úlcera duodenal) foi associado ao risco aumentado de úlcera duodenal. (Datta De & Roychoudhury, 2015)

A inflamação desencadeada pela *H.pylori* é regulada por uma variedade de citocinas inflamatórias. Os polimorfismos genéticos da IL1 β e do TNF α influenciam a variação individual que define o resultado clínico final do doente. Tais polimorfismos podem ser potenciados pelos fatores de virulência da bactéria (Cag A, Vac A e Bab A). A IL1 β tem um efeito inibidor na produção de ácido e o seu nível é mais elevado em casos de atrofia da mucosa do corpo do estômago, estando por isso normalmente associada com a úlcera gástrica. (Datta De & Roychoudhury, 2015)

A infeção pela *H. pylori* pode exercer o seu efeito no pâncreas através de processos fisiopatológicos indiretos e por estimulação direta. Existem duas hipóteses que explicam o papel de *H. pylori* na carcinogénese pancreática.

Uma das hipóteses resulta da colonização da respetiva bactéria na mucosa do antro do estômago e a outra hipótese, pela sua colonização na mucosa do corpo do estômago. Pela proximidade anatómica do antro do estômago e o duodeno, a colonização no antro do estômago pela bactéria potencia o desenvolvimento de úlcera duodenal e a colonização no corpo do estômago promove o desenvolvimento de úlcera gástrica. (C. Wang & Li, 2015)

Os doentes com úlcera duodenal apresentam gastrite predominantemente antral e acidez aumentada. A inflamação na mucosa do antro do estômago pela *H.pylori*, pode provocar lesão nas células D que estão encarregues de produzir somatostatina, aumentando a secreção de secretina e a produção de bicarbonato pelas células pancreáticas. (Datta De & Roychoudhury, 2015; Elizabeth MA et al., 2015; Wang & Li, 2015)

A secretina demonstrou, em estudos em ratos, associação com a proliferação ductal pancreática e com o carcinoma do pâncreas. Isto coloca a hipótese desta enzima potenciar a ação de carcinogénios e estar envolvida na patogénese de cancro do pâncreas. (Bulajic, 2014; Datta De & Roychoudhury, 2015; Elizabeth MA et al., 2015)

Para além disso, a redução da somatostatina causa a inibição das células G antrais, levando a um aumento da libertação de gastrina que estimula a produção de

ácido pelas células parietais, localizadas no corpo gástrico.(Bulajic, 2014; Datta De & Roychoudhury, 2015; Elizabeth MA et al., 2015)

Doentes com úlcera gástrica apresentam gastrite, maioritariamente, no corpo do estômago, acidez diminuída (hipocloridria) e atrofia da mucosa em diferentes graus. A hipoacidez resultante facilita o crescimento excessivo de bactérias e o aumento da produção de nitrosaminas, que podem ser ativados no epitélio do ducto pancreático após o transporte para o pâncreas, pela corrente sanguínea. As nitrosaminas são compostos cancerígenos que podem danificar o ADN e potenciar a carcinogénese. (Datta De & Roychoudhury, 2015; Elizabeth MA et al., 2015; Risch, 2012; Wang & Li, 2015)

A úlcera duodenal tem sido pouco associada ao cancro gástrico e pancreático. Pelo contrário, a úlcera gástrica encontra-se referenciada como fator de risco de ambas as neoplasias. (Datta De & Roychoudhury, 2015; Elizabeth MA et al., 2015; Nisha et al., 2014; Bao et al., 2010)

O mecanismo exato da influência da *H. pylori* sobre a carcinogénese pancreática ainda está pouco esclarecido. No entanto, a *H. pylori* tem sido alvo de estudo como potenciadora de risco de desenvolvimento do cancro do pâncreas, podendo ser uma razão para a erradicação da *H. pylori*, especialmente em indivíduos com suscetibilidade genética e história familiar de cancro do pâncreas. (Bulajic, 2014). A patogénese da *H.pylori* encontra-se esquematizada na figura 3.

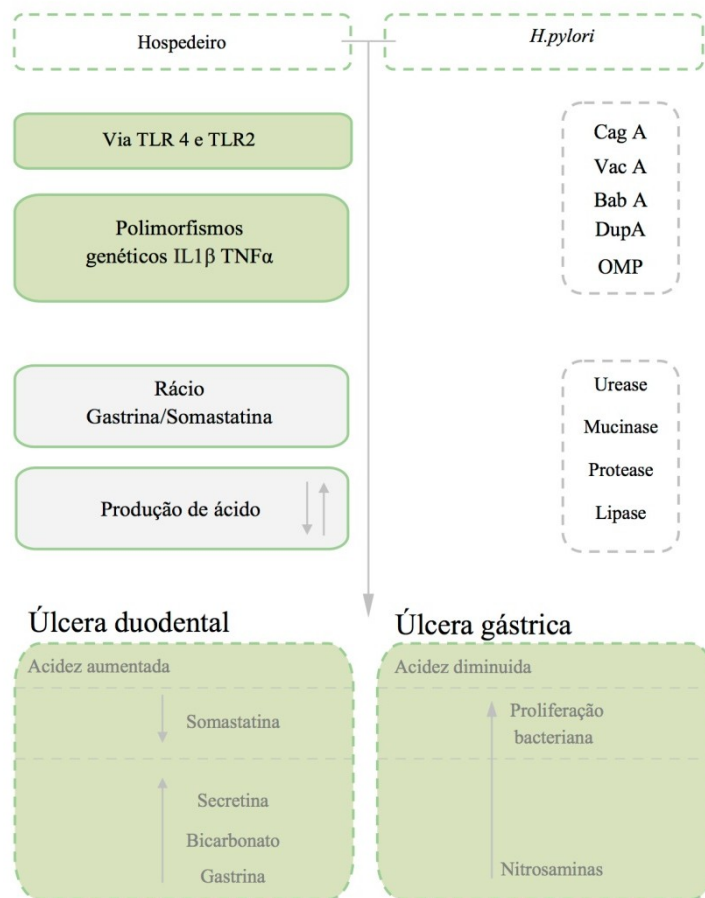


Figura 3: Patogénese da *Helicobacter pylori*. (Adaptado de Datta De & Roychoudhury, 2015)

3.1.1.2. *Porphyromonas gingivalis*

A *P. gingivalis* é um agente patogénico oportunista gram-negativo anaeróbio obrigatório e tem sido associada com a doença periodontal e com o possível envolvimento em doenças sistémicas, como o cancro do pâncreas. (Atanasova & Yilmaz, 2014; Cugini et al., 2013; Tribble et al., 2013)

A *P. gingivalis* é conhecida por ser uma bactéria proteolítica. Pode modificar o biofilme oral e causar doença periodontal. Os fatores de virulência da bactéria como os LPS, as adesinas e as *gingipains* podem participar na regulação da imunidade do hospedeiro. (Cugini et al., 2013)

No estudo de coorte prospectivo de Michaud, (2013) foram recolhidas amostras de sangue de 385 000 de ambos os sexos. Dessas amostras, 405 eram casos de doentes

com cancro do pâncreas. Após a exclusão de fatores de risco associados ao cancro do pâncreas, verificou-se que existe um risco estatisticamente significativo duas vezes superior de desenvolver cancro do pâncreas nos indivíduos com níveis elevados de anticorpos contra *P. gingivalis*.

O estudo prospectivo de Ahn et al., (2012) teve como amostra 12 605 indivíduos de ambos os sexos do *National Health and Nutrition Examination Survey III*. A cada um foi efetuado um exame oral e a verificação do estado periodontal: 1 826 doentes tinham periodontite moderada e 379 tinham periodontite severa. Para além do exame oral, foram conservadas amostras de soro contendo anticorpos contra *P.gingivalis*. O objetivo do estudo foi a verificação da possível associação da bactéria com a mortalidade por cancro digestivo, onde se incluiu o cancro do pâncreas. Foram verificadas 105 mortes por cancro digestivo e a presença de periodontite e anticorpos contra *P.gingivalis* foram associados a um aumento estatisticamente significativo de mortalidade. Nos casos de cancro colo-rectal e cancro do pâncreas, o risco de mortalidade aumentou proporcionalmente à gravidade da doença periodontal.

A sinalização pelos recetores *toll-like* tem mostrado desempenhar um papel importante nos cancros pancreáticos, visto fazerem parte de mecanismos como a inibição da apoptose, promoção do crescimento do tumor e a angiogénese. O mecanismo de ação da *P.gingivalis* parece envolver os recetores *toll-like* mais especificamente os recetores *toll-like* 2 e recetores *toll-like* 4. (Hayashi, Gudino, Gibson, & Genco, 2010; Zambirinis & Miller, 2013; Sato et al., 2009)

A *P. gingivalis* tem a capacidade de regular a via de sinalização ATP / P2X7. O recetor P2X7 tem implicações diretas na regulação de uma variedade de elementos e vias de respostas imunes do hospedeiro. Algumas dessas vias incluem a modulação intracelular das espécies reativas de oxigénio (EROs), controlo da apoptose, secreção de citocinas pró-inflamatórias e regulação de vias de transdução do sinal do pâncreas. O P2X7 pode mediar o crescimento celular, neovascularização e promoção de metástases. (Atanasova & Yilmaz, 2014)

Durante a infeção primária das células epiteliais orais, a *P.gingivalis* pode libertar uma enzima anti-apoptótica, nucleosídeo difosfato quinase (NDK) e expressar

fatores de virulência como fimbrias (Fim A), proteases de cisteína (*gingipains*), peptidil-arginina-deaminase (PAD), lipopolissacarídeos, hemaglutinase e polissacáridos capsulares que interagem com as células epiteliais do pâncreas a partir do recetor P2X7. (Atanasova & Yilmaz, 2014)

Os fatores de virulência da bactéria parecem fazer parte de uma complexa rede de vias moleculares que culminam na transformação neoplásica e carcinogénese a nível pancreático. Assim, em conjunto com a predisposição genética, fatores comportamentais e a sinergia com outros componentes do biofilme oral, poderão potenciar efeitos sobre as células epiteliais, levando à predisposição para o desenvolvimento cancerígeno. (Atanasova & Yilmaz, 2014)

As *gingipains* podem participar na ativação de MMPs, especialmente da MMP9. Esta última pode ser associada à disseminação metastática das células do cancro. (Atanasova & Yilmaz, 2014)

Na figura 4 está representada a transformação das células epiteliais normais em lesões pré-cancerosas e cancerosas na presença de infeção por *P.gingivalis* e vias moleculares associadas.

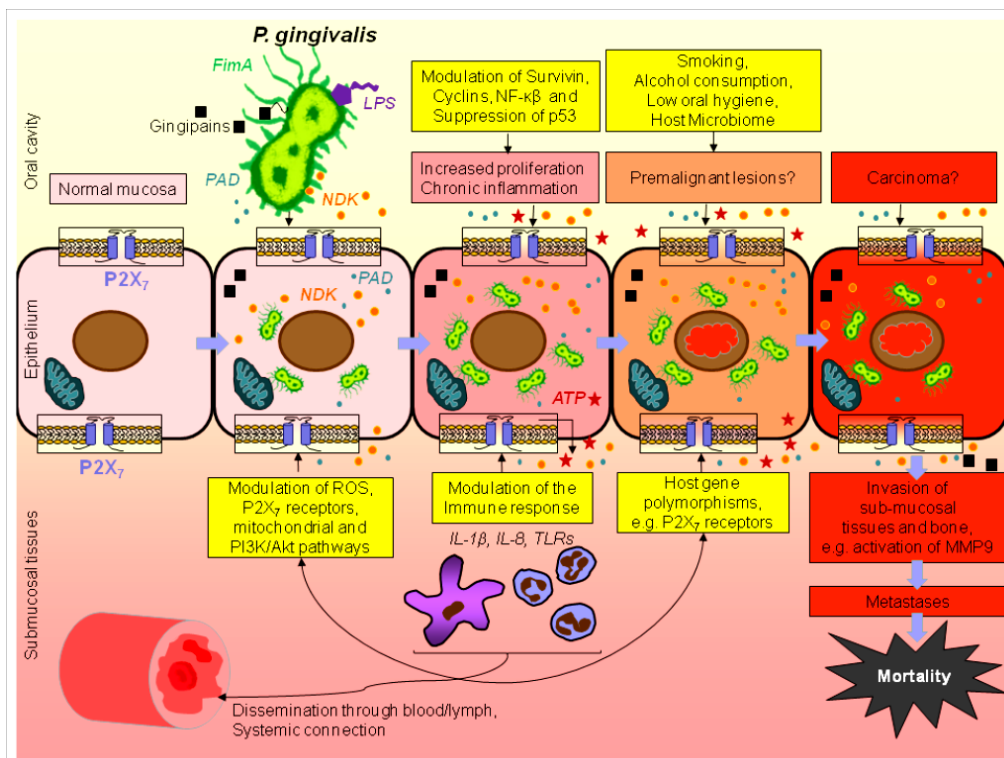


Figura 4: Mecanismo da *Porphyromonas gingivalis* na promoção da carcinogénese. (Atanasova & Yilmaz, 2014)

Ainda se encontram em discussão alguns dos mecanismos predisponentes para o cancro digestivo associados à *P. gingivalis*. Contudo, tem sido proposto que a bactéria por si só pode ser considerada um fator de predisposição no microambiente, direcionando o desenvolvimento ou o prognóstico dos cancros digestivos, nomeadamente o cancro do pâncreas. (Atanasova & Yilmaz, 2014)

3.1.2. Hipótese inflamatória

Quando se pretende relacionar a doença periodontal e o cancro, o principal indicador da hipótese inflamatória é a presença de mediadores inflamatórios, tais como citocinas, quimiocinas, e prostaglandinas, associados ao desenvolvimento do cancro e presentes na doença periodontal. Tais mediadores promovem a sobrevivência celular, a proliferação celular, migração celular e a angiogénese, criando-se um ambiente que potencia as mutações nas células epiteliais, que podem proliferar e crescer de uma forma atípica. (Anil et al., 2010; Fitzpatrick & Katz, 2010; Kumar, 2013)

A inflamação é um fator comum, tanto na doença periodontal como no cancro do pâncreas. A resposta inflamatória do hospedeiro, mediada pelos agentes patogénicos periodontais, leva a um aumento de vários marcadores de inflamação sistémica, nomeadamente, TNF- α , IL-6 e IL-1 β que se encontram aumentados no cancro do pâncreas. (Kumar, 2013; Meyer et al., 2008; Yucel-Lindberg & Båge, 2013)

O fator nuclear kappa B (NF κ B) é um fator de transcrição que se encontra aumentado na doença periodontal. Controla a expressão de numerosos genes envolvidos na inflamação e genes que codificam fatores de crescimento e de invasão celular. O NF κ B é continuamente ativado por diversos tipos de cancro, incluindo o cancro do pâncreas e pode ser induzido por vários tipos de citocinas inflamatórias. (Reilly, Santocanale, Szegezdi, & Higgins, 2015; Takahashi et al., 2013)

O gene da ciclooxygenase 2 (COX2) tem sido relacionado com a periodontite. Para além de estar envolvido em processos inflamatórios, participa na proliferação e diferenciação celular, anti-apoptose, metástases e angiogénese. A expressão da COX2 é regulada por vias de sinalização do cancro do pâncreas e o pode estar localizada nas células acinares atróficas do pâncreas, ilhotas e células do ducto pancreático. (Loos et al., 2015; Takahashi et al., 2013; Vaithilingam et al., 2014)

A mieloperoxidase (MPO) e a superóxido dismutase (SOD2) participam na regulação da inflamação, através de reações com o peróxido de hidrogénio (H₂O₂), estando os seus níveis aumentados na presença de periodontite. Estas enzimas regulam as espécies reativas de oxigénio e podem conter polimorfismos que conferem uma alteração na sua atividade enzimática, potenciando o stress oxidativo que desempenha um papel importante na carcinogénese do cancro do pâncreas. (Wheatley-Price et al., 2008; Kaner et al., 2006; Akalin et al., 2005)

A tabela 3 apresenta em resumo alguns mediadores inflamatórios presentes na doença periodontal que podem ter um papel no desenvolvimento do cancro do pâncreas.

Mediadores inflamatórios no cancro do pâncreas	
TNF-α	<ul style="list-style-type: none"> - É uma citocina pró-inflamatória e é secretada pelos macrófagos; - Ativa o fator nuclear kappa B; - Ativa as vias JNKs, que regulam o crescimento celular, diferenciação e a apoptose no desenvolvimento do cancro do pâncreas. <p>(Takahashi et al., 2013)</p>
IL – 6	<ul style="list-style-type: none"> - Ativa a via STAT 3 que medeia a expressão de uma variedade de genes. Desempenha um papel fundamental em muitos processos celulares, tais como o crescimento celular e a apoptose; - Potencia a secreção de quimiocinas (implicadas na capacidade de invasão e nos processos metastáticos). <p>(Takahashi et al., 2013)</p>

IL - 1β	<ul style="list-style-type: none"> - É secretada por células malignas e pelos leucócitos; - Desempenha um papel central na regulação das respostas imunes e no processo inflamatório do cancro do pâncreas; - Contribui para o aumento da invasão do tumor, angiogénese e imunossupressão; - Contribui para expressão de Caspase-1, enzima aumentada no cancro do pâncreas; - Ativa o fator nuclear kappa B; - Ativa a via JNK. <p>(Takahashi et al., 2013)</p>
NF – κB	<ul style="list-style-type: none"> - Regula a transcrição de genes que desempenham ação no desenvolvimento embrionário, na diferenciação linfóide, apoptose, respostas imuno-inflamatórias, potenciando a carcinogénese; - Contribui para expressão aumentada de COX-2. <p>(Godwin et al., 2013; Takahashi et al., 2013)</p>
Mieloperoxidase Superóxido dismutase	<ul style="list-style-type: none"> - Regulam a formação de espécies reativas de oxigénio convertendo os radicais superóxido em H₂O₂ e oxigénio; - Participam nas respostas imuno-inflamatórias; - Os seus polimorfismos reduzem a atividade antioxidante, tendo implicação patológica no cancro do pâncreas. <p>(Wheatley-Price et al., 2008)</p>

Tabela 3: Mediadores inflamatórios no cancro do pâncreas

A relação da doença periodontal com determinadas doenças sistémicas como o cancro do pâncreas necessita de mais investigação científica. Contudo, com base na evidência disponível, é prudente incluir em programas de saúde pública que visem prevenção de doença sistémica, o rastreio oral e a análise dos fatores de risco como a doença periodontal. (Anil et al., 2010)

4. Diagnóstico do Cancro do pâncreas

Atualmente, não existe nenhum programa de rastreio para o cancro do pâncreas; em casos de suspeita clínica ou risco familiar, exames imagiológicos como tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM) podem dirigir a realização de exames mais invasivos, como ecoendoscopia com biópsia. (Bonne & Wong, 2012; Dutta et al., 2012)

O cancro do pâncreas, na maior parte das vezes, é diagnosticado num estadio avançado. Devido à sua localização retroperitoneal, as lesões no pâncreas podem ser difíceis de palpar e de captar a nível radiológico, o que enfatiza a necessidade de um exame não invasivo que possa detetar a doença no estadio inicial e ser repetido periodicamente em pacientes de alto risco. (Bonne & Wong, 2012; Dutta et al., 2012; Kenner et al., 2015)

A pesquisa de biomarcadores do cancro do pâncreas no sangue e na saliva tem sido objeto de estudo no diagnóstico da doença. O teste sanguíneo é o único método cientificamente validado e aplicável clinicamente. (Ballehaninna & Chamberlain, 2013; Wu, Zhou, Bhat, & Ma, 2013)

4.1. Testes sanguíneos

Neste tipo de cancro, existem proteínas com expressão aumentada, tais como CA 19-9, CEA, MIC-1, CEACAM1 e REG4 passíveis de serem detetadas no teste sanguíneo. São úteis na avaliação da resposta à quimioterapia e na determinação do prognóstico, prevendo a recorrência do tumor. No entanto, estes biomarcadores têm apresentado limitações significativas, como a falta de sensibilidade e especificidade. (Ballehaninna & Chamberlain, 2013; Jenkinson et al., 2014; Molina et al., 2012)

A principal limitação do CA 19-9 é a sua falta de especificidade, já que é informativo de doença tanto no cancro do pâncreas como noutros cancros com potencial maligno (colorectal, fígado, mama e pulmão), bem como em doenças não malignas (icterícia obstrutiva, pancreatite, cirrose e doenças pulmonares). Contudo, o CA 19-9 é o biomarcador mais estudado e é, apesar das suas limitações, considerado clinicamente útil no diagnóstico com maior aplicabilidade e experiência no cancro do pâncreas. (Molina et al., 2012; Wu et al., 2013; Xie et al., 2015)

4.2. Testes salivares

Existem dois métodos de testes salivares: saliva não estimulada e estimulada. O método com recurso a saliva não estimulada é mais útil no diagnóstico pois contém concentrações mais elevadas de biomarcadores. (Yoshizawa et al., 2013)

A passagem de componentes do sangue para a saliva dá-se por transporte ativo, difusão passiva e aumento da filtração pelas glândulas salivares. (Rai, Pai, Kedilaya, & Vijayakumar, 2013; Spielmann & Wong, 2011; Xie et al., 2015)

Os exossomas (vesículas que contêm material genético) podem estar envolvidos no transporte de biomarcadores sistémicos para a saliva. Os exossomas derivados do tumor podem produzir um ambiente favorável no crescimento de tumor e em potenciais locais de metástases, bem como interagir com as células das glândulas salivares e ativar o seu mecanismo transcricional. (Zhang & Grizzle, 2014; Bonne & Wong, 2012; Lau et al., 2013)

Os testes salivares apresentam algumas desvantagens em relação aos testes sanguíneos. A expressão das biomoléculas presentes na saliva é alterada de acordo com os ritmos circadianos e, por isso, nem sempre refletem fielmente as concentrações das moléculas do sangue. Os componentes salivares podem estar alterados pela técnica da recolha, pelo grau de estimulação do fluxo salivar, dieta, medicamentos, idade, sexo e estado fisiológico. (Pfaffe, Cooper-White, Beyerlein, Kostner, & Punyadeera, 2011; Mittal et al., 2011)

O teste sanguíneo com recurso ao CA 19-9 é efetuado a partir de uma seleção restrita de doentes, enquanto a utilização dos novos biomarcadores salivares permite selecionar um grupo maior de doentes e doentes suscetíveis ao cancro. Os testes salivares podem ser efetuados pelo médico dentista, referindo o seu importante contributo na área da medicina preventiva. (Farrell et al., 2012; Miskiewicz & Szparecki, 2011; Cheng, Rees, & Wright, 2014; Goswami, Mishra, Agrawal, & Agrawal, 2015)

Após a validação dos biomarcadores salivares específicos do cancro do pâncreas, os testes salivares poderão ser aplicáveis numa perspetiva epidemiológica e de

rastreio; em doentes com outros fatores de risco, a aplicação destes testes poderia potenciar um diagnóstico mais rápido (inclusivamente indicando que doentes seriam candidatos a estudos mais dirigidos para o diagnóstico – laboratoriais, imagiológicos ou endoscópicos). (Cheng, Rees, & Wright, 2014; Goswami, Mishra, Agrawal, & Agrawal, 2015; Pfaffe et al., 2011).

Assim, é necessário definir grupos de alto risco que potencialmente beneficiem da realização dos testes salivares para deteção precoce do cancro do pâncreas. Estes testes poderiam ser úteis em indivíduos que desenvolveram diabetes mellitus tipo 2 (DM2) acima dos 50 anos, considerados indivíduos de alto risco (uma vez que em 20 a 25% destes o diagnóstico de DM2 precede o diagnóstico de cancro do pâncreas). (Jenkinson et al., 2014; Kenner et al., 2015; Miskiewicz & Szparecki, 2011)

A componente hereditária deve ser analisada, visto serem doentes de alto risco aqueles que apresentam antecedentes familiares de cancro do pâncreas ou síndromes hereditárias predisponentes para estes tumores. (Jenkinson et al., 2014)

É necessária a realização de estudos com maior número de doentes e a caracterização precisa dos subgrupos de doentes para definir exatamente qual o benefício da utilização destes biomarcadores; contudo estes permanecem uma hipótese promissora no panorama global da abordagem desta patologia. (Jenkinson et al., 2014)

4.3. Saliva como fonte de biomarcadores do cancro do pâncreas

A composição da saliva varia de acordo com o estado da doença e com as alterações imunológicas e hormonais, expressando-as em biomarcadores que podem ser característicos do cancro. Estes biomarcadores podem ser derivados do sangue e do fluido gengival crevicular. (Ballehaninna & Chamberlain, 2013; Bonne & Wong, 2012; Xie et al., 2015)

Um biomarcador ideal deve permitir um diagnóstico de cancro no seu estadio inicial, antes que se propague para outros órgãos. O progresso da Medicina Dentária permitiu a descoberta de biomarcadores salivares que podem indicar diferentes patologias associadas ao pâncreas. (Devaraj S, 2013; Rai et al., 2013; Ballehaninna & Chamberlain, 2013)

A aplicação dos biomarcadores salivares como diagnóstico requer pesquisa clínica e a identificação dos grupos de alto risco para a doença. Os biomarcadores podem ser divididos em três grupos: microbiológicos, genéticos e enzimáticos. (Humeau et al., 2013; Andrzej Miskiewicz & Szparecki, 2011)

4.3.1. Marcadores microbiológicos

A proliferação de bactérias patogénicas pode potenciar a progressão do cancro através da inflamação sistémica. (Igari, Kudo, Toyofuku, Inoue, & Iwai, 2014; Andrzej Miskiewicz & Szparecki, 2011; Vogtmann & Goedert, 2016)

De acordo com Farrell et al., (2012); Miskiewicz & Szparecki, (2011) & Torres et al., (2015) as concentrações na saliva de *Streptococcus mitis* e *Neisseria elongata* são inversamente proporcionais ao risco de desenvolver cancro do pâncreas (sendo a sua presença um fator protetor); pelo contrário, níveis elevados de *Granulicatella adiacens*, *Leprotichia buccalis* e *Campylobacter jejuni* foram encontrados em doentes com cancro do pâncreas.

Um único biomarcador bacteriano não é capaz de identificar de forma consistente o cancro do pâncreas. É necessário associar bactérias e determinar um perfil microbiológico que permita estabelecer uma correlação diagnóstica estatisticamente significativa e replicável. (Mitsuhashi et al., 2015; Torres et al., 2015)

4.3.2. Marcadores genéticos

Os mRNAs e os microRNAs são componentes essenciais na proliferação, desenvolvimento, diferenciação e apoptose das vias cancerígenas. Podem funcionar como oncogenes ou genes supressores de tumor e serem segregados por células distantes, sendo detetados nos fluidos corporais, como é o caso da saliva. Na presença da doença, pode verificar-se a alteração da transcrição do mRNA e do microRNA. Pelo seu envolvimento no processo de transformação oncogénica, estão a ser investigados como novos biomarcadores de deteção e prognóstico bem como potenciais alvos terapêuticos do cancro. (Bonne & Wong, 2012; Wang & Sen, 2011)

No estudo de Humeau et al., (2013) foram recolhidas amostras salivares de doentes com cancro do pâncreas, pancreatite, neoplasia intraductal mucinosa do

pâncreas (IPMN) e de controlos saudáveis. O estudo obteve como resultados a expressão aumentada de determinados microRNA (microRNA 21, microRNA 23a, microRNA23b e microRNA 29c) na saliva de doentes com cancro do pâncreas, em comparação com a amostra de controlo. Verificou-se a expressão aumentada do microRNA 23a e do microRNA 23b na saliva de pacientes com lesões precursoras do cancro do pâncreas (IPMN).

Foi validado o microRNA 21 como um potencial biomarcador salivar para casos de adenocarcinoma do pâncreas. (Humeau et al., 2013; Hwang et al., 2010; Sicard, Gayral, Lulka, Buscail, & Cordelier, 2013)

No seu desenvolvimento, o cancro do pâncreas desencadeia um padrão específico de expressão genética. Foram descobertos cinco genes associados ao cancro do pâncreas, KRAS, DMX2, DPM1, ACRV1 e MBD3L2, que são considerados como possíveis biomarcadores salivares. (Miskiewicz & Szparecki, 2011; Zhang L et al., 2010).

4.3.3. Marcadores enzimáticos

A expressão da isoforma anidrase carbónica IX é significativamente mais prevalente em casos de cancro do pâncreas, sendo um potencial biomarcador salivar. É considerado um marcador de hiperplasia do epitélio do ducto pancreático estando relacionada com o desenvolvimento e progressão do cancro do pâncreas.(Li, Dong, Sheng, & Huang, 2015; Andrzej Miskiewicz & Szparecki, 2011)

III - CONCLUSÃO

Não obstante a ambição da investigação científica em esclarecer a etiologia do cancro do pâncreas, ainda existem potenciais mecanismos etiológicos que se mantêm sem resposta. Assim, mais estudos de âmbito multidisciplinar com amostras mais alargadas são essenciais a fim de esclarecer de uma forma mais apurada o mecanismo da correlação entre a periodontite e o cancro do pâncreas.

Caso estes estudos confirmem a relação de ambas as doenças, a prevenção deve ser reforçada com recurso ao diagnóstico e tratamento periodontal atempado de modo a que a referida doença da cavidade oral não seja um fator de risco da progressão e prognóstico do cancro do pâncreas.

A ausência de grupos de risco específicos bem como de métodos de rastreio claramente identificados para o cancro do pâncreas torna a área da prevenção e/ou diagnóstico precoce uma das mais complexas da Oncologia.

O contributo da Medicina Dentária, particularmente na identificação de biomarcadores salivares de doença e a sua determinação seriada, pode revelar-se de crucial importância para o aumento de sobrevida dos doentes afetados com esta neoplasia. Assim, o atual progresso na área da medicina dentária preventiva, especificamente o diagnóstico salivar, poderá contribuir para a monitorização da saúde oral e sistémica de uma forma simples, rápida e eficaz. Atendendo ao impacto social e psicológico desta neoplasia, torna-se fundamental realizar mais estudos prospetivos randomizados de maior volume e/ou reforçar a validade científica de biomarcadores salivares passíveis de implementação numa maior amostra populacional para o seu rastreio.

IV – BIBLIOGRAFIA

Ahn, J., Segers, S., & Hayes, R. B. (2012). Periodontal disease, porphyromonas gingivalis serum antibody levels and orodigestive cancer mortality. *Carcinogenesis*, 33(5), 1055–1058.

Akalin FA, Toklu E, Renda N. (2005). Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J Clin Periodontol*. 32,238–243.

Anil, S., Varma, S. V., & Preethanath, R. S. (2010). The emerging concepts on the impact of periodontitis on systemic health. *Periodontal diseases - A clinician's guide*; 6, 131-164.

Atanasova, K. R., & Yilmaz, Ö. (2014). Looking in the *Porphyromonas gingivalis*' cabinet of curiosities: the microbium, the host and cancer association. *Mol Oral Microbiol*, 29(2), 55–66.

Ballehaninna, U. K., & Chamberlain, R. S. (2013). Biomarkers for pancreatic cancer: promising new markers and options beyond CA 19-9. *Tumor Biology*, 34(6), 3279–3292.

Bao Y, Spiegelman D, Li D, Giovannucci E, Fuchs C S, M. D. S. (2010). History of peptic ulcer disease and pancreatic cancer risk in men. *Gastroenterology*, 138(2), 181–204.

Bonne, N. J., & Wong, D. T. (2012). Salivary biomarker development using genomic, proteomic and metabolomic approaches. *Genome Medicine*, 4(10), 2-12.

Borgnakke, W. S. (2015). Does treatment of periodontal disease influence systemic disease? *Dental Clinics of North America*, 59(4), 885–917.

Bulajic, M. (2014). *Helicobacter pylori* and pancreatic diseases. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 5(4), 380-383.

Chang, J. S., Tsai, C.-R., Chen, L.-T., & Shan, Y.-S. (2016). Investigating the association between periodontal disease and risk of pancreatic cancer. *Pancreas*, 45(1), 134–41.

Cheng, Y.-S. L., Rees, T., & Wright, J. (2014). A review of research on salivary biomarkers for oral cancer detection. *Clinical and Translational Medicine*, 3(3), 1-10.

Constantinos P. Zambirinis, M.D., M.Res, Smruti Pushalkar, Ph.D., Deepak Saxena, Ph.D., and George Miller, M. D. (2014). Pancreatic cancer, inflammation and microbiome. *Cancer J*, 20(3), 195–202.

Cugini, C., Klepac-Ceraj, V., Rackaityte, E., Riggs, J. E., & Davey, M. E. (2013). *Porphyromonas gingivalis*: keeping the pathos out of the biont. *Journal of Oral Microbiology*, 5, 1–10.

Daniel H, L. M. (2015). The Pathogenesis, diagnosis, and management of pancreatic cancer. *Journal of Gastrointestinal & Digestive System*, 5(2), 1-11

Datta De, D., & Roychoudhury, S. (2015). To be or not to be: the host genetic factor and beyond in *Helicobacter pylori* mediated gastro-duodenal diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 21(10), 2883–2895.

De la Cruz, M., Young, A. P., & Ruffin, M. Z. T. (2014). Diagnosis and management of pancreatic cancer. *American academy of family physicians*, 89(8), 626–632.

Devaraj S. (2013). Salivary biomarkers - A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(10), 210–212.

Dutta, S. K., Girotra, M., Singla, M., Dutta, A., Otis Stephen, F., Nair, P. P., & Merchant, N. B. (2012). Serum HSP70: A novel biomarker for early detection of pancreatic cancer sudhir. *Pancreas*, 41(4), 530–534.

Elizabeth MA, R. G., Roesler, B. M., & Zeitune, J. M. (2015). Extragastric manifestations of *helicobacter pylori* infection: possible role of bacterium in liver and pancreas diseases. *World Journal of Hepatology*, 7(30), 2968–2979.

Farrell J J , Lei Zhang, Hui Zhou, David Chia, David Elashoff, David Akin, B., & J Paster, Kaumudi Joshipura, and D. T. W. W. (2012). Variations of oral microbiota are associated with pancreatic diseases including pancreatic cancer. *Gut*, 61(4), 582–588.

Fitzpatrick, S. G., & Katz, J. (2010). The association between periodontal disease and cancer: a review of the literature. *Journal of Dentistry*, 38(2), 83–95.

Franceschi, F., Tortora, A., Gasbarrini, G., & Gasbarrini, A. (2014). *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Helicobacter*, 19(1), 52–58.

Godwin, P., Baird, a M., Heavey, S., Barr, M. P., O’Byrne, K. J., & Gately, K. (2013). Targeting nuclear factor-kappa B to overcome resistance to chemotherapy. *Frontiers in Oncology*, 3(May), 1-10.

Goggins, M. (2011). Markers of pancreatic cancer: working toward early detection. *Clinical Cancer Research*, 17(4), 635–637.

Goswami, Y., Mishra, R., Agrawal, A. P., & Agrawal, L. a. (2015). Salivary biomarkers-A review of powerful diagnostic tool. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences Ver. VII*, 14(3), 80-87.

Guru Trikudanathan, Aby Philip, Constantin A Dasanu, W. L. B. (2011). Association between *helicobacter pylori* infection and pancreatic cancer. *JOP. Journal of the Pancreas*, 12(1), 26–31.

Hayashi, C., Gudino, C. V., Gibson, F. C., & Genco, C. A. (2010). Pathogen-induced inflammation at sites distant from oral infection: bacterial persistence and induction of cell-specific innate immune inflammatory pathways. *Molecular Oral Microbiology*,

25(5), 305–316.

Highfield, J. (2009). Diagnosis and classification of periodontal disease. *Australian Dental Journal*, 54 (1), 11–26.

Humeau, M., Torrisani, J., & Cordelier, P. (2013). MiRNA in clinical practice: pancreatic cancer. *Clinical Biochemistry*, 46(10-11), 933–936.

Hwang, J. H., Voortman, J., Giovannetti, E., Steinberg, S. M., Leon, L. G., Kim, Y. T., Giaccone, G. (2010). Identification of microRNA-21 as a biomarker for chemoresistance and clinical outcome following adjuvant therapy in resectable pancreatic cancer. *PLoS ONE*, 5(5), 1–12.

Igari, K., Kudo, T., Toyofuku, T., Inoue, Y., & Iwai, T. (2014). Association between periodontitis and the development of systemic diseases. *Oral Biology and Dentistry*, 2(4), 1-7.

Jenkinson, C., Earl, J., Ghaneh, P., Halloran, C., Carrato, A., Greenhalf, W., Costello, E. (2014). Biomarkers for early diagnosis of pancreatic cancer. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 1–11.

Kaner D, Bernimoulin JP, Kleber BM, Heizmann WR, Fried- mann A. (2006). Gingival crevicular fluid levels of calprotectin and myeloperoxidase during therapy for generalized aggressive periodontitis. *J Periodontal Res.* 4,132–139.

Kenner, B. J., Chari, S. T., Cleeter, D. F., & Go, V. L. W. (2015). Early detection of sporadic pancreatic Cancer strategic map for innovation-A white Paper. *Pancreas*, 44(5), 686–692.

Kim, J., & Amar, S. (2006). Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship. *Odontology*, 94(1), 10–21.

Kumar, P. S. (2013). Oral microbiota and systemic disease. *Anaerobe*, 24, 90–93.

Lau, C., Kim, Y., Chia, D., Spielmann, N., Eibl, G., Elashoff, D., Wong, D. T. W. (2013). Role of pancreatic cancer-derived exosomes in salivary biomarker development. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(37), 26888–26897.

Laufey T. Amundadottir. (2016). Pancreatic cancer genetics. *International Journal of Biological Sciences*, 12(3), 314–325.

Li, Y., Dong, M., Sheng, W., & Huang, L. (2015). Roles of carbonic anhydrase IX in development of pancreatic cancer. *Pathology & Oncology Research*, 1-10.

Loos, B. G., Papantonopoulos, G., Jepsen, S., & Laine, M. L. (2015). What is the contribution of genetics to periodontal risk? *Dental Clinics of North America*, 59(4), 761–780.

Malvezzi, M., Bertuccio, P., Levi, F., La Vecchia, C., & Negri, E. (2014). European cancer mortality predictions for the year 2014. *Annals of Oncology*, 25(8), 1650–1656.

Meyer, M. S., Joshipura, K., Giovannucci, E., & Michaud, D. S. (2008). A review of the relationship between tooth loss, periodontal disease, and cancer. *Cancer Causes & Control: CCC*, 19(9), 895–907.

Michaud, D. S. (2013). Role of bacterial infections in pancreatic cancer. *Carcinogenesis*, 34(10), 2193–2197.

Michaud, D. S., & Izard, J. (2014). Microbiota, oral microbiome, and pancreatic cancer. *Cancer Journal (Sudbury, Mass.)*, 20(3), 203–206.

Michaud D.S., K.T. Kelsey, E. Papathanasiou, C.A. Genco, E. G. (2016). Periodontal disease and risk of all cancers among male never smokers: an updated analysis of the health professionals follow-up study. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, 24, 1–18.

Michaud D S, Yan Liu, MS, Mara Meyer, Edward Giovannucci, K. J. (2008). Periodontal disease, tooth loss and cancer risk in a prospective study of male health professionals. *Lancet Oncol*, 9(6), 550–558.

Michaud, D. S., Joshipura, K., Giovannucci, E., & Fuchs, C. S. (2007). A prospective study of periodontal disease and pancreatic cancer in US male health professionals. *Journal of the National Cancer Institute*, 99(2), 171–175.

Miller, C. S., Foley, J. D., Bailey, A. L., Campell, C. L., Humphries, R. L., Christodoulides, N., McDevitt, J. T. (2010). Current developments in salivary diagnostics. *Biomarkers in Medicine*, 4(1), 171–189.

Miskiewicz, A., Górski, R., & Szparecki, G. (2011). Saliva biomarkers and periodontal pathologies in patients with pancreatic diseases . *Journal of Stomatology*, 64(8), 598–611.

Mitsushashi, K., Nosho, K., Sukawa, Y., Matsunaga, Y., Ito, M., Kurihara, H., Shinomura, Y. (2015). Association of fusobacterium species in pancreatic cancer tissues with molecular features and prognosis. *Oncotarget*, 6(9), 1–12.

Mittal, S., Bansal, V., Garg, S., Atreja, G., & Bansal, S. (2011). The diagnostic role of saliva - A Review. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 3(4), 314–320.

Molina, V., Visa, L., Conill, C., Navarro, S., Escudero, J. M., Auge, J. M., Molina, R. (2012). CA 19-9 in pancreatic cancer: retrospective evaluation of patients with suspicion of pancreatic cancer. *Tumor Biology*, 33(3), 799–807.

Nilsson, H. O., Wadström, T., Stenram, U., & Ihse, I. (2006). *Helicobacter* species ribosomal DNA in the pancreas, stomach and duodenum of pancreatic cancer patients. *World Journal of Gastroenterology*, 12(18), 3038–3043.

Nisha, K. J., Nandakumar, K., Shenoy, K. T., & Janam, P. (2014). Periodontal disease and *Helicobacter pylori* infection: a community-based study using serology and rapid urease test. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 7(1), 37–45.

- Öğrendik, M. (2015). Oral bacteria in pancreatic cancer : mutagenesis of the p53 tumour suppressor gene. *Int J Clin Exp Pathol*, 8(9), 11835–11836.
- Ottenhof, N. a, de Wilde, R. F., Maitra, A., Hruban, R. H., & Offerhaus, G. J. a. (2011). Molecular characteristics of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pathology Research International*, 2011, 1-17
- Pfaffe, T., Cooper-White, J., Beyerlein, P., Kostner, K., & Punyadeera, C. (2011). Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clinical Chemistry*, 57(5), 675–687.
- Rai, V., Pai, V. R., Kedilaya, H. P., & Vijayakumar, T. (2013). Salivary tumor markers - A review. *International journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences*, 3(3), 510–520.
- Reilly, E. O., Santocanale, C., Szegezdi, E., & Higgins, P. J. (2015). Molecular targets for novel drug development in pancreatic cancer. *Annals of Cancer Research*, 2(3), 1–11.
- Risch, H. A. (2012). Pancreatic cancer: *Helicobacter pylori* colonization, N-Nitrosamine exposures, and ABO blood group. *Molecular Carcinogenesis*, 51(1), 109–118.
- Risch, H. A., Yu, H., Lu, L., & Kidd, M. S. (2010). ABO blood group, *helicobacter pylori* seropositivity, and risk of pancreatic cancer: A case-control study. *Journal of the National Cancer Institute*, 102(7), 502–505.
- Sarkar, F. H., Banerjee, S., & Li, Y. (2007). Pancreatic cancer: pathogenesis, prevention and treatment. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 224(3), 326–336.
- Sato, Y., Goto, Y., Narita, N., & Hoon, D. S. B. (2009). Cancer cells expressing toll-like receptors and the tumor microenvironment. *Cancer Microenvironment*, 2(1), 205-214
- Scannapieco, F. A. (2013). The oral microbiome: its role in health and in oral and systemic infections. *Clinical Microbiology Newsletter*, 35(20), 163–169.
- Sicard, F., Gayral, M., Lulka, H., Buscail, L., & Cordelier, P. (2013). Targeting miR-21 for the therapy of pancreatic cancer. *Molecular Therapy : The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 21(5), 986–994.
- Spielmann, N., & Wong, D. (2011). Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Diseases*, 17(4), 345–354.
- Takahashi, M., Mutoh, M., Ishigamori, R., Fujii, G., & Imai, T. (2013). Involvement of inflammatory factors in pancreatic carcinogenesis and preventive effects of anti-inflammatory agents. *Seminars in Immunopathology*, 35(2), 203–227.
- Taylor, J. J. (2014). Protein Biomarkers of Periodontitis in Saliva. *ISRN Inflammation*, 2014, 1–18.

Torres, P. J., Fletcher, E. M., Gibbons, S. M., Bouvet, M., Doran, K. S., & Kelley, S. T. (2015). Characterization of the salivary microbiome in patients with pancreatic cancer. *PeerJ* 1-16

Tribble, G. D., Kerr, J. E., & Wang, B. (2013). Genetic diversity in the oral pathogen *Porphyromonas gingivalis*: molecular mechanisms and biological consequences. *Future Microbiology*, 8(5), 607–620.

Vaithilingam, R. D., Safii, S. H., Baharuddin, N. A., Ng, C. C., Cheong, S. C., Bartold, P. M., Loos, B. G. (2014). Moving into a new era of periodontal genetic studies: Relevance of large case-control samples using severe phenotypes for genome-wide association studies. *Journal of Periodontal Research*, 49(6), 683–695.

Vogtmann, E., & Goedert, J. J. (2016). Epidemiologic studies of the human microbiome and cancer. *British Journal of Cancer*, 114, 237-242.

Wang, C., & Li, J. (2015). Pathogenic microorganisms and pancreatic cancer. *Gastrointestinal Tumors*, 2(1), 41–47.

Wang, J., & Sen, S. (2011). MicroRNA functional network in pancreatic cancer: from biology to biomarkers of disease. *Journal of Biosciences*, 36(3), 481–491.

Wheatley-Price, P., Asomaning, K., Reid, A., Zhai, R., Su, L., Zhou, W., Liu, G. (2008). Myeloperoxidase and superoxide dismutase polymorphisms are associated with an increased risk of developing pancreatic adenocarcinoma. *Cancer*, 112(5), 1037–1042.

Wu, E., Zhou, S., Bhat, K., & Ma, Q. (2013). CA 19-9 and pancreatic cancer. *Clin Adv Hematol Oncol*, 11(1), 53–55.

Xie, Z., Yin, X., Gong, B., Nie, W., Wu, B., Zhang, X., Li, Z. (2015). Salivary microRNAs show potential as a noninvasive biomarker for detecting resectable pancreatic cancer. *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)*, 8(2), 165–73.

Yoshizawa, J. M., Schafer, C. A., Schafer, J. J., Farrell, J. J., Paster, B. J., & Wong, D. T. W. (2013). Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 781–791.

Yucel-Lindberg, T., & Båge, T. (2013). Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 15(7), 1-22

Zambirinis, C. P., & Miller, G. (2013). Signaling via MYD88 in the pancreatic tumor microenvironment: A double-edged sword. *Oncoimmunology*, 2(1), 1-3.

Zhang, H. G., & Grizzle, W. E. (2014). Exosomes: a novel pathway of local and distant intercellular communication that facilitates the growth and metastasis of neoplastic lesions. *American Journal of Pathology*, 184(1), 28–41.

Zhang, J. J., Wu, H. S., Wang, L., Tian, Y., Zhang, J. H., & Wu, H. L. (2010). Expression and significance of TLR4 and HIF-1 α in pancreatic ductal adenocarcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 16(23), 2881–2888.

Zhang, L., Farrell, J. J., Zhou, H., Elashoff, D., Akin, D., Chia, D., & Wong, D. T. (2010). Salivary Transcriptomic Biomarkers for detection of resectable pancreatic cancer. *Gastroenterology*, 138(3), 949–957.

Zhang, L., Henson, B. S., Camargo, P. M., & Wong, D. T. (2009). The clinical value of salivary biomarkers for periodontal disease. *Periodontology 2000*, 51(1), 25–37.